



بررسی ارزش غذایی، ویژگی‌های میکروبی و حسی پودر استخوان ماهی کپور نقره‌ای (*Hipophthalmichthys molitrix*) پرورشی

مینا سیف‌زاده*¹

1- مرکز ملی تحقیقات فرآوری آبزیان، پژوهشکده آبی‌پروری آب‌های داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، انزلی، ایران
* نویسنده مسئول (m_seifzadeh_ld@yahoo.com)

تاریخ دریافت: 1401/05/22

تاریخ بازنگری: 1401/07/23

تاریخ پذیرش: 1401/07/24

تاریخ انتشار برخط: 1402/03/23

چکیده

مطالعه حاضر با هدف تهیه پودر از استخوان ماهی کپور نقره‌ای با روش قلیایی و بررسی ویژگی‌های تغذیه‌ای، حسی و میکروبی انجام شد. در این پژوهش کربنات کلسیم به‌عنوان شاهد استفاده شد. مقادیر پروتئین (18/51 درصد)، چربی (5/11 درصد)، رطوبت (5/58 درصد) و خاکستر (70/82 درصد) در پودر استخوان ماهی بودند. راندمان تهیه پودر 66/98 درصد تعیین شد. برخلاف پودر استخوان ماهی عناصر معدنی سیلیسیوم، آلومینیوم، باریوم و کروم در نمونه شاهد مشاهده نشدند. فسفر در پودر استخوان (81580 میلی‌گرم بر کیلوگرم) در مقایسه با شاهد (310 میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیشتر بود ($P < 0/05$). اما کلسیم در تیمار آزمایشی (325000 میلی‌گرم بر کیلوگرم) در مقایسه با شاهد (388000 میلی‌گرم بر کیلوگرم) کمتر بود ($P < 0/05$). از نظر رنگ و پذیرش کلی بین تیمارهای آزمایشی و شاهد تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد ($P < 0/05$). در میان اسیدهای چرب اشباع، تک‌زنجیره غیراشباع و چند غیراشباع به ترتیب اسیدهای پالمیتیک (22/73 درصد)، الایدیک (43/74 درصد) و لینولئیک (7/35 درصد) بالاترین مقادیر را در پودر استخوان دارا بودند. همچنین مقادیر کل اسیدهای آمینه ضروری شامل ترئونین، والین، لیزین، ایزولوسین، متیونین، هیستیدین و فنیل آلانین 218/29 میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. هیچ‌گونه میکروارگانیزمی شامل قارچ، شریشیاکلی و سالمونلا در تیمارها مشاهده نشد. از آنجاکه پودر استخوان به شکل انبوه از گونه‌های مختلف ماهی قابل تولید بوده و سرشار از ترکیبات تغذیه‌ای است، از این‌رو برای غنی‌سازی محصولات به صنعت غذایی پیشنهاد می‌گردد.

واژه‌های کلیدی

ارزش تغذیه‌ای
استخراج قلیایی
زائادات ماهی
غنی‌سازی
ماهی پرورشی



مقدمه

شکل تازه‌خوری و اینکه هم‌اکنون کپور نقره‌ای به‌عنوان ماده اولیه برای تولید فراورده‌های خمیری در بعضی از کارخانه‌های فرآوری غذاهای دریایی مورد استفاده قرار می‌گیرد که مقدار زیادی زائادات جامد از جمله استخوان تولید می‌گردد. همچنین براساس اینکه استخوان به‌عنوان ماده اصلی باقی‌مانده از محصولات فرآوری ماهی شناخته شده است که مقدار زیادی از وزن ماهی را (10 تا 15 درصد) تشکیل می‌دهد (Asikin et al., 2019)، و

در ایران طی سال‌های 1394-1399 و در جهان طی سال‌های 2010-2018 تولید ماهیان گرم‌آبی از 184064 تا 221090 تن و از 3972 تا 4788/5 هزار تن رسید، از این‌رو با اکتساب 8/8 درصد از کل تولید آبی‌پروری جهان مقام دوم را برای تولید ماهیان پرورشی به خود اختصاص دادند (FAO, 2020; IFO, 2021). باتوجه‌به حجم زیاد تولید کپور ماهیان، مصرف مقدار زیادی از این ماهی به

(2018). از این رو ممکن است در مقایسه با کلسیم مصنوعی فواید بیشتری را برای حفظ سلامتی استخوان داشته باشند. بنابراین غنی‌سازی غذاهای اصلی مورد مصرف انسان می‌تواند به‌عنوان روش کارآمدی برای تأمین نیازمندی‌های غذایی روزانه به‌دلیل بهره‌برداری از بسیاری از ویتامین‌ها و مواد معدنی پذیرفته شود. محصولات غنی‌سازی‌شده با پودر استخوان می‌تواند در افزایش مقدار دریافت کلسیم به‌ویژه در افراد مبتلابه عدم تحمل لاکتوز که به اندازه کافی شیر و محصولات لبنی مصرف نمی‌کنند، مفید واقع شود (Murillo *et al.*, 2022; Pyz-Łukasik & Paszkiewicz, 2018).

شیر و فراورده‌های آن، آرد گندم و ذرت، نمک، شکر، چربی‌ها و روغن‌ها از فراورده‌های غذایی رایج در کشورهای درحال توسعه هستند که به‌طور موفقیت‌آمیزی با استفاده از نمک‌های کلسیم تجاری مانند کربنات کلسیم، سیترات کلسیم و فسفات تری‌کلسیم غنی‌سازی شده‌اند. درحالی‌که استفاده از منابع طبیعی کلسیم مانند پودر استخوان ماهی به‌دلیل برخورداری از ترکیبات دیگری مانند بعضی از اسیدهای آمینه که ممکن است منجر به افزایش متابولیسم کلسیم گردد، در مقایسه با کربنات کلسیم خالص و مصنوعی برای سلامت استخوان انسان مؤثرتر بوده و می‌تواند توسط مصرف‌کنندگان مورد قبول واقع شود. همچنین به‌دلیل دارا بودن فسفات کلسیم مشابه به ترکیبات استخوان انسان ممکن است که اثرات بیشتری داشته باشد. پژوهشگران نشان داده‌اند که دسترسی زیستی به بخش معدنی استخوان ماهی امکان‌پذیر است، بنابراین این قسمت توانایی دارد که مزایایی را برای سلامتی انسان ایجاد کند. علاوه بر این، مصرف غذاهای سرشار از کلسیم طی زندگی برای جلوگیری یا به‌تأخیر انداختن پوکی استخوان در افراد مسن (زنان و مردان) مؤثر بوده و توصیه می‌شود (Bhenjapaipong, 2021; Desai *et al.*, 2018).

ترکیبات سازنده استخوان ماهی از جمله مواد معدنی (غیرآلی) و پروتئین‌های کلاژن و ژلاتین را برای تهیه محصولات فراسودمند و سلامت انسان می‌توان مفید در نظر گرفت. از این رو، افزایش علاقه به بهره‌مندی از مزایای سلامتی زائادات ماهی منجر به استفاده از فراورده‌های جانبی آبزیان در صنعت غذایی و تولید پودر استخوان ماهی شد (Nuraeni, 2020; Ratnamanjari Senapati, 2014).

علاوه بر این، طی سال 1399 سرانه مصرف آبزیان در

مطالعه‌های انجام‌شده توسط سایر پژوهشگران نیز به اثبات رسانده است که حدود نیمی از وزن آبزیان از زائادات خام مانند پوست، سر، امعاواحشا، استخوان و باله‌ها تشکیل یافته است (Amitha, 2019)، و با در نظر گرفتن حجم تولید زائادات، استفاده اقتصادی از زائادات آبزیان، تولید فراورده‌های با ارزش افزوده و کاهش آلودگی محیط‌زیست و اینکه ساختار و ترکیبات تشکیل‌دهنده استخوان در همه آبزیان تقریباً مشابه است، و فراورده تولیدی از زائادات گونه‌های استخوانی را می‌توان به سایر گونه‌ها گسترش داد، می‌طلبد که در این راستا تولید پودر استخوان ماهی را از زائادات کارخانه‌های فراوری آبزیان به منزله ماده اولیه تولید فراورده‌ای جهت غنی‌سازی محصولات غذایی و مصارف انسانی مورد توجه قرار داد و در این زمینه برنامه‌ریزی کرد.

به‌طور معمول حجم زیادی از باقی‌مانده‌های فراوری دور ریخته می‌شود و منجر به ایجاد اثرات نامطلوب زیست‌محیطی و همچنین از بین رفتن منابع می‌شود. در حال حاضر مدیریت زائادات و به‌کارگیری آنها به‌عنوان ماده اولیه برای تهیه غذای انسان به منزله چالش بزرگی برای استفاده اقتصادی از فراورده‌های حاصل از صنعت عمل‌آوری آبزیان مطرح هستند. استخوان ماهی به‌عنوان منبع بالقوه و طبیعی از کلسیم به حساب می‌آید (Asikin *et al.*, 2019). همچنین سرشار از فسفر و فسفات کلسیم است. از سایر ترکیبات تشکیل‌دهنده استخوان ماهی هیدروکسی آپاتیت را می‌توان نامبرد، که نقش آن کمک به ترمیم استخوان‌ها بعد از اعمال ضربه‌های بزرگ یا جراحی است. با اینکه تحقیق‌ها ثابت کرده است کلسیم استخوان ماهی از فراهمی‌زیستی بالایی برخوردار هست، اما هنوز هم قسمت اعظم استخوان ماهی به‌عنوان ماده خام برای تولید پودر ماهی که دارای ارزش اقتصادی پایینی است، به مصرف می‌رسد. ولی استخوان ماهی ممکن است به منزله ماده اولیه‌ای برای افزایش درآمد ناشی از ماهیگیری و تولید محصولات با ارزش افزوده باشد، و به این ترتیب می‌توان به ایجاد شرایط پایدار در محیط‌زیست نیز دست یافت (Malde *et al.*, 2010).

مطالعه‌های انجام‌شده توسط سایر محققین به اثبات رسانده است که استخوان‌های ماهی حاوی مقادیر قابل‌ملاحظه‌ای مواد معدنی (21 تا 57 درصد)، مواد آلی (20 تا 30 درصد) و پپتیدها بوده و مقدار کربوهیدرات در آنها ناچیز می‌باشد (Pyz-Łukasik & Paszkiewicz, 2014).

پژوهش تمامی مواد شیمیایی موردنیاز برای انجام آزمایش‌های شیمیایی و همچنین محیط‌های کشت میکروبی از شرکت مرک تهیه شدند.

نمونه‌برداری

نمونه‌برداری برای انجام آزمایش‌های شیمیایی، حسی و میکروبی طی زمان نگهداری هر ماه یک بار در زمان مشخص و به مدت 6 ماه انجام شد. همچنین بعد از تولید در زمان صفر نیز از تیمارهای آزمایشی و شاهد جهت انجام آزمایش‌ها نمونه‌برداری شد.

پروتئین

از ماکرو کج‌لدال (Gerhardt-behr، ساخت آلمان) برای اندازه‌گیری پروتئین استفاده شد. برای هضم نمونه‌ها مقادیر 2 گرم نمونه به اضافه 8 گرم کاتالیزور و 25 میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ به بالن هضم دستگاه انتقال یافتند. در مرحله بعدی مایع شفاف و متمایل به سبز به همراه دو سوم حجم بالن آب‌مقطر و تعدادی سنگ جوش تقطیر شد. بخارها در ارنل حاوی 50 میلی‌لیتر اسید بوریک 2 درصد به همراه 3 تا 4 قطره بروموکروزول به‌عنوان معرف جمع‌آوری شده و تیتراسیون توسط اسید سولفوریک 0/1 نرمال انجام گردید (AOAC, 2005).

چربی

چربی به روش هیدرولیز اسیدی اندازه‌گیری شد. برای تعیین چربی به 5 گرم نمونه همگن‌شده ماهی، 50 میلی‌لیتر اسید کلریدریک 4 نرمال اضافه شد و بعد از قرارگرفتن به مدت 1 ساعت در بن‌ماری با دمای 80 درجه سانتی‌گراد با استفاده از کاغذ واتمن صاف گردید. در مرحله بعدی کاغذ صافی به قسمت استخراج‌کننده سوکسله (Behr-AK5، ساخت آلمان) انتقال یافت. پس از متصل کردن بالن با وزن مشخص، دو سوم از حجم آن با حلال (هگزان) پُر شده و به مدت 6 تا 8 ساعت هیدرولیز صورت پذیرفت (AOAC, 2005).

خاکستر

خاکستر به روش تعیین گراویمتریک اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری خاکستر بوته‌های تمیز در کوره (Fine tech، ساخت کره) با دمای 600 درجه سانتی‌گراد به مدت 1 ساعت قرار گرفتند. بوته‌های خنک‌شده به خشک‌کن انتقال

ایران به 13/38 کیلوگرم و میزان پروتئین مصرفی به 6/92 گرم رسید که در مقایسه با سرانه مصرف جهانی 20/3 کیلوگرم پایین‌تر است (IFO, 2021). غنی‌سازی فرآورده‌های غذایی با پودر استخوان ماهی می‌تواند به منزله گامی مؤثر برای افزایش مصرف پروتئین آبزیان به حساب آید (Gupta, 2018). باین حال مطالعه‌های محدودی در مورد بررسی ارزش غذایی پودر استخوان ماهی و اثرات مفید به‌کارگیری آن در برنامه غذایی انسان انجام شده است و مطالعه‌ای برای بررسی اثرات مصرف استخوان ماهی بر سلامت انسان گزارش نشده است. از این‌رو، مطالعه حاضر با هدف تهیه پودر از استخوان ماهی کپور نقره‌ای و بررسی ارزش غذایی آن در مقایسه با کربنات کلسیم به‌عنوان منبع تجاری کلسیم انجام شد.

مواد و روش‌ها

عمل‌آوری پودر استخوان ماهی کپور نقره‌ای

10 کیلوگرم ماهی کپور نقره‌ای¹ در فصل پاییز صید شد. برای اجرای این مطالعه، 2 تیمار در نظر گرفته شد که در 3 تکرار عمل‌آوری شدند. تیمارها شامل پودر استخوان و شاهد بودند. برای تهیه پودر استخوان روش قلیایی به‌کارگرفته شد. استخوان‌ها بعد از گوشت‌گیری شسته شدند. سپس در آب با دمای 100 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 دقیقه جوشانده شدند. باقی‌مانده‌های گوشت و ماهیچه از ستون فقرات ماهی جدا شدند. مجدد در آب با دمای 100 درجه سانتی‌گراد به مدت 2 ساعت جوشانده شدند. سپس نمونه‌ها به مدت 1 ساعت در اتوکلاو (مدل RT-2، ساخت ایران) و دمای 121 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. در مرحله بعدی در آب مخلوط‌شده با سود 1 نرمال به مدت 30 دقیقه جوشانده شدند. آنگاه تیمارها طی مدت زمان 24 ساعت در دمای 50 درجه سانتی‌گراد خشک شدند. سپس با استفاده از آسیاب برقی (مولینکس، ساخت فرانسه) به پودر تبدیل شدند. پودر به دست‌آمده در مقادیر 200 گرمی با استفاده از پلاستیک‌های پلی‌اتیلن به روش هوازی بسته‌بندی شدند و به مدت 6 ماه در دمای محیط نگهداری گردیدند. از پودر تجاری کربنات کلسیم (مرک، ساخت آلمان) به‌عنوان نمونه شاهد استفاده شد (Wulandari & Kusumasari, 2019).

ارزش غذایی تیمار آزمایشی و ویژگی‌های حسی و میکروبی آن در مقایسه با تیمار شاهد از طریق آزمون‌های زیر موردارزیابی قرار گرفتند. لازم به ذکر است که در این

¹ *Hipophthalmichthys molitrix*

اندازه‌گیری شد. به این ترتیب که 0/5 گرم از نمونه به همراه 4 میلی‌لیتر محلول اسید کلریدریک به مدت 24 ساعت در دمای 110 درجه سانتی‌گراد هیدرولیز اسیدی شد. هنگامی که دمای نمونه به 24 درجه سانتی‌گراد رسید، با استفاده از سانتریفیوژ (Hettich Universal 320، ساخت آلمان) با سرعت 4000 دور در دقیقه (گرم نیرو: 3756/48) طی مدت زمان 5 دقیقه سانتریفیوژ شد. در مرحله بعدی 10 میکرولیتر از مایع رویی به انضمام 1 میلی‌لیتر آب مقطر به نمونه انتقال یافت. به استثنای ایزولوسین و هیستیدین که شامل لوسین IS و 3-متیل هیستیدین بود، مخلوط‌های ایزوتوپ پایدار از هر اسید آمینه به عنوان استاندارد داخلی (IS) برای کالیبراسیون در نظر گرفته شد. بعد از هیدرولیز استانداردهای کالیبراسیون و نمونه‌ها از طریق انتقال 50 میکرولیتر از استاندارد هیدرولیز شده یا رقیق شده به نمونه آماده شد. سپس 50 میکرولیتر از مخلوط ایزوتوپ‌های پایدار نشان‌دار به عنوان استاندارد داخلی و 700 میکرولیتر از معرف سانتریفیوژ نشده به مدت 5 ثانیه به نمونه اضافه شدند. سپس 3 میکرولیتر از نمونه آماده که در دمای 30 درجه سانتی‌گراد نگهداری شده بود، برای آنالیز اسید آمینه به ستون C18 از HPLC (HP 1100، ساخت آلمان) تزریق شد. فازهای متحرک جاسم A و B و شستشوی گرادیان با سرعت جریان 0/7 میلی‌لیتر در دقیقه برای جداسازی از طریق کروماتوگرافی به کار گرفته شدند، و اسیدهای آمینه در طول موج 254 نانومتر تعیین گردیدند (Iran National Standards Organization, 2016a; Zhao et al., 2010).

تعیین فلزهای سنگین سرب و کادمیوم

مقادیر فلزهای سنگین سرب و کادمیوم نیز به روش هضم شیمیایی اسیدی تعیین شدند. برای اندازه‌گیری مقادیر فلزهای سنگین سرب و کادمیوم مقدار 20 گرم از نمونه مورد استفاده قرار گرفت. مقدار 50 میلی‌لیتر اسید کلریدریک 6 مولار به نمونه افزوده شد. به طوری که تمام محتوای خاکستر داخل کروزه به اسید آغشته گردید. کروزه در بن‌ماری تا تبخیر اسید اضافه شده، قرار داده شد. سپس 30 میلی‌لیتر اسید نیتریک 0/1 مولار به نمونه افزوده شد. به طوری که نمونه به طور کامل با اسید پوشانده شد. جهت انحلال بهتر نمونه و اسید کروزه در بن‌ماری جوش به مدت 15 دقیقه گذاشته شد. بعد از این مرحله کروزه حاوی نمونه با فویل آلومینیومی پوشانده شده و به مدت 2 ساعت در فضای آزمایشگاه قرار داده شد. بعد از این مدت محتوای

داده شدند و تا دمای اتاق خنک شدند. سپس به سرعت وزن شده و به همراه 10 گرم از غذای خشک نشده به مدت 12 تا 18 ساعت در دمای 550 درجه سانتی‌گراد در کوره الکتریکی (Fine tech، کره) قرار داده شدند. بعد از طی این مدت و سرد شدن بوته‌ها وزن شدند و درصد خاکستر محاسبه شد (AOAC, 2005).

رطوبت

رطوبت به روش آون خشک تعیین شد. برای تعیین رطوبت نمونه، 10 گرم از ماهی در پتری دیش با وزن مشخص و در آون (Memert، ساخت آلمان) با دمای 100 درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از رسیدن به وزن ثابت، به مدت 1 ساعت در دسیکاتور قرار داده شد تا خنک و توزین شود (AOAC, 2005).

پروفایل اسیدهای چرب

50 میلی‌گرم نمونه به ظرف حجمی نشان‌دار منتقل گشت. چند عدد سنگ جوش و 2 میلی‌لیتر محلول سدیم متوکسید در متانول (با غلظت 0/2 مول بر لیتر) به آن اضافه شد. سردکننده برگردان به آن متصل شده، بعد از جوشیدن تا زمان شفاف شدن مخلوط گردید. بعد از قطع حرارت و توقف هم‌زدن، 2 میلی‌لیتر محلول متانولی فنول فتالین به آن اضافه شد. جهت بی‌رنگ شدن محلول اسید سولفوریک در متانول (1 مول در لیتر) به آن اضافه گشت و 5 دقیقه جوشانده شد. در مرحله بعدی برای خنک شدن زیر جریان آب سرد قرار گرفته و به انضمام 4 میلی‌لیتر کلرید سدیم 40 درصد مخلوط گردید. سپس 1 میلی‌لیتر ایزواکتان به آن اضافه شده، به مدت 15 ثانیه به شدت هم‌زده و محلول تا زمان تبدیل به 2 فاز در دمای محیط قرار گرفت. جهت رسیدن فاز آبی به انتهای پایینی گردن ظرف، مجدد محلول کلرید سدیم اضافه شد و فاز رویی شامل ایزواکتان از سایر فازها جهت اندازه‌گیری پروفایل اسیدهای چرب جدا گردید. گاز کروماتوگرافی (2010Pro، ساخت ژاپن) با ستون موئینه 60 میلی‌متری و دتکتور یونی شعله‌ای برای اندازه‌گیری پروفایل اسیدهای چرب به کار گرفته شد (Iran National Standards Organization, 2022).

پروفایل اسیدهای آمینه

مقادیر اسیدهای آمینه به روش یونیزاسیون الکترواسپری

سانتی‌گراد خشک شده است را در مقداری آب مقطر حل کرده و حجم آن به 1 لیتر رسانده شد (AOAC, 1990).

روش اندازه‌گیری عناصر معدنی

برای تعیین عناصر معدنی روش طیف‌سنجی جذب اتمی (PU9100X، ساخت هلند) مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌ها بعد از تبدیل به پودر سفید رنگ با استفاده از کوره الکتریکی در 1 میلی‌لیتر محلول اسید نیتریک حل شدند. محتوای بوت‌چینی به بالن 250 میلی‌لیتری نشانه‌دار به‌وسیله شستشو با آب منتقل گردید و به حجم 250 میلی‌لیتر رسانده شد. بعد از مخلوط کردن، مراحل رقیق‌سازی ادامه یافت. به میزان 0/1 حجم بالن، محلول لانتانیوم تری‌کلرید به آن افزوده شد. محلول با استفاده از آب در بالن حجمی به حجم رسانده شد. تمام مراحل با روش و میزان مواد یکسان و واکنش‌گرهای افزوده‌شده به‌عنوان شاهد به‌کارگرفته شد. طیف‌سنج شعله با مشعل هوا استیلین (PinAAcle900F، ساخت آمریکا) که مناسب برای اندازه‌گیری در طول موج‌های مختلف (400 تا 800 نانومتر) است برای تعیین مقادیر عناصر معدنی مورد استفاده قرار گرفت. محلول‌های کالیبراسیون برای هر عنصر از طریق انحلال 1000 گرم از عنصر خالص در 1 لیتر آب دیونیزه تهیه شد. با استفاده از میکروپیپت حجم‌های صفر، 1، 2، 3، 4 و 5 میلی‌لیتر از محلول را به 6 بالن حجمی 100 میلی‌لیتری منتقل و 10 محلول لانتانیوم تری‌کلرید به هر بالن اضافه‌شده و سپس با آب به حجم رسانده شد و مخلوط گردید (AOAC, 2000a; Iran National Standards Organization, 2008).

رنگ‌سنجی

رنگ نمونه‌ها توسط دستگاه هانتربل (مدل Colorflex، ساخت آمریکا) تعیین شد. شدت رنگ‌ها با استفاده از پارامترهای هانتربل برحسب روش‌نمایی (L)، قرمزی-سبزی (a) و زردی-آبی (b) بیان شد (Gilbert, 2013).

ارزیابی حسی

بو، بافت، رنگ، طعم و مزه، وضعیت ظاهری و پذیرش کلی برای تعیین ویژگی‌های حسی به روش هدونیک 5 نقطه‌ای به‌کارگرفته شدند. ویژگی‌های حسی توسط 30 ارزیاب زن و مرد در رده سنی 30 تا 40 سال انجام شد، که در آن اعداد 1، 2، 3، 4، 5 به ترتیب نشانگر کیفیت عالی، خیلی خوب، خوب، متوسط و ضعیف بودند (Gilbert, 2013).

داخل کروزه با استفاده از یک میله شیشه‌ای مخلوط شد. نمونه خنک‌شده با استفاده از کاغذ صافی صاف گردید. نمونه به بالن حجمی انتقال داده شد و تا خط نشانه با آب 2 بار تقطیر بدون یون پُرشد. سپس جهت همگن‌شدن بالن به‌خوبی تکان داده شد. سپس از دستگاه طیف‌سنجی جذب اتمی نوری با کوره گرافیتی (ZA3700، ساخت ژاپن) استفاده شد. برای اندازه‌گیری میزان جذب نور طول موج 228/8 نانومتر برای کادمیوم و طول موج برای سرب 283/3 نانومتر برای محلول‌های استاندارد تعیین شد و براساس منحنی کالیبراسیون غلظت هر عنصر در نمونه تعیین شد. محدوده اندازه‌گیری دستگاه برای فلز سرب 30-10-5 بخش در میلیون و درصد بازیافت 107 درصد و برای فلز کادمیوم 1/5-1-0/5 بخش در میلیون و درصد بازیافت دستگاه 80 درصد است. مقادیر بازیافت دستگاه برای سرب 0/02 میلی‌گرم بر کیلوگرم و برای کادمیوم 0/01 میلی‌گرم بر کیلوگرم است (AOAC, 2000b; Iran National Standards Organization, 2016b).

روش اندازه‌گیری فسفر

برای اندازه‌گیری فسفر از دستگاه اسپکتروفتومتر (LAMBDA 365، ساخت آمریکا) استفاده شد. 5/2 گرم از نمونه با 1 گرم کربنات کلسیم مخلوط شد. این مخلوط در کوره الکتریکی (دمای 550 درجه سانتی‌گراد) جهت به‌دست‌آوردن خاکستر از نمونه‌ها قرار گرفت. به خاکستر 20 میلی‌لیتر اسید کلریدریک و 10 میلی‌لیتر اسید نیتریک اضافه گردید و به مدت 2 تا 5 دقیقه جوشانده شد. محلول حاصله را به حجم 500 میلی‌لیتر رسانده، و سپس صاف شد. مقدار مشخصی از محلول صاف‌شده با آب مقطر تا رسیدن غلظت فسفر در هر میلی‌لیتر به کمتر از 40 میکروگرم در میلی‌لیتر رقیق شد. به 10 میلی‌لیتر محلول به‌دست‌آمده، مقدار 10 میلی‌لیتر معرف مولیبدو و انادات افزوده شد و بعد از مخلوط کردن به مدت 10 دقیقه در حرارت 20 درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. جذب محلول حاصله را با استفاده از سل‌های 4 با قطر 10 میلی‌متری و اسپکتروفتومتر در طول موج 430 نانومتر خوانده شد. به‌عنوان شاهد محلول 10 میلی‌لیتر معرف مولیبدو و انادات و 10 میلی‌لیتر آب مقطر استفاده شد. برای تهیه محلول استاندارد فسفر که حاوی 1 میلی‌گرم فسفر در میلی‌لیتر است، در بالن ژوژه 1 لیتری مقدار 394/4 گرم فسفات دی‌هیدروژن پتاسیم که قبل از توزین در حرارت 103 درجه

کپک و مخمر

فیزیولوژی هموژنیزه شد. تهیه رقت‌های متوالی تا رقت 10^{-3} ادامه یافت. سپس 1 میلی‌لیتر از هر رقت روی محیط‌های اختصاصی مک‌کانکی آگار و مک‌کانکی آگار حاوی سوربیتول، سفکسیم و تلوریت کشت داده شد و به مدت 48 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری گردید. برای تهیه محیط کشت مک‌کانکی آگار حاوی ترکیبات مختلف، ابتدا میزان 0/05 گرم 4-متیل لامبلیفریل گالاکتوپیرانوزید⁸ در 495 میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. سپس 5 گرم سوربیتول، 5 گرم سالیسین و 20 گرم مک‌کانکی آگار پایه به آن افزوده شد. محیط بعد از انتقال به اتوکلاو در دمای 121 درجه سانتی‌گراد به مدت 15 دقیقه استریل شد. در مرحله بعدی هنگامی که دمای محیط به 50 تا 55 درجه سانتی‌گراد رسید، 5 میلی‌لیتر از سوسپانسیون تجاری سفکسیم تلوریت (CT⁹) به آن افزوده گردید (Feng et al., 2002).

اندازه‌گیری بازده

بازده با استفاده از فرمول $r=P/C$ محاسبه شد، که در آن P مقدار محصول تولیدشده به ازای ماده اولیه (C) است. برای تعیین بازده 500 گرم از ماده اولیه مورد استفاده قرار گرفت. با تقسیم مقدار پودر تولیدشده بر مقدار ماده اولیه (500 گرم) و ضرب عدد به دست آمده در 100 بازده برحسب درصد تعیین شد (Demerjian, 2018).

آنالیز آماری

در مطالعه حاضر نتایج به دست آمده از آزمایش‌های مختلف با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه 25 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج در سطح معنی‌دار 95 درصد مورد بررسی قرار گرفتند. روش غیرپارامتریک کروسکال والیس و در صورت نیاز آزمون من‌ویتنی برای بررسی مقایسه میانگین بین تیمارها و ارزیابی تفاوت آماری بین نتایج آنالیز حسی به دست آمده از طریق هدونیک به کار گرفته شد. برای بررسی مقایسه میانگین‌های نتایج آزمایش‌های رنگ نمونه‌های آزمایشی و شاهد از آزمون t-Test در سطح معنی‌داری 5 درصد استفاده گردید. نتایج به شکل میانگین \pm انحراف معیار بیان گردیدند.

برای بررسی آلودگی پودر استخوان تولیدی به کپک و مخمر از روش کشت سطحی استفاده شد. بدین منظور ابتدا مقدار 25 گرم نمونه با استفاده از 225 میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی هموژن شد. سپس رقت‌سازی متوالی از سوسپانسیون تهیه شده تا رقت 10^{-3} انجام شد. سپس 1 میلی‌لیتر از هر رقت به روی محیط اختصاصی سابورد دکستروز کلرامفنیکال آگار¹ کشت شده، درب پلیت با استفاده از چسب کاغذی به آن چسبانده شد و به مدت 1 هفته در دمای 25 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. لازم به ذکر است برای افزودن آنتی‌بیوتیک به محیط کشت 0/1 گرم از کلرامفنیکال در 40 میلی‌لیتر آب مقطر حل شد. محلول آنتی‌بیوتیک به 960 میلی‌لیتر محیط کشت قبل از فرایند استریل‌سازی انتقال یافت (Tournas et al., 2001).

سالمونلا²

باکتری سالمونلا در 2 مرحله شامل پیش‌غنی‌سازی و غنی‌سازی کشت شد. در مرحله اول مقدار 25 گرم نمونه با 225 میلی‌لیتر لاکتوز برات³ 0/5 درصد مخلوط شد. این سوسپانسیون به مدت 24 ساعت در دمای 35 درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری گردید. در مرحله غنی‌سازی نمونه به آرامی مخلوط شد و مقدار 1 میلی‌لیتر از آن به 10 میلی‌لیتر سلنت F برات⁴ و تتراتیونات برات⁵ انتقال داده شد و به مدت 24 تا 48 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد گذاشته شد. در مرحله نهایی 0/3 میلی‌لیتر از سوسپانسیون سلنت F برات و آبگوشت تتراتیونات برات به روی محیط‌های کشت سالمونلا شیگلا آگار⁶ و بیسموت سولفیت آگار به روش سطحی کشت داده شد. محیط‌های کشت به مدت 24 ساعت در گرم‌خانه با دمای 37 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند (Andrews et al., 2022).

اشریشیاکلی

برای تشخیص وجود باکتری‌های کلی‌فرم و اشریشیاکلی⁷ مقدار 50 گرم نمونه با استفاده از 450 میلی‌لیتر سرم

¹ Sabouraud Dextrose Choramphenicol Agar² Salmonella³ Lactose Broth⁴ Selenite F broth⁵ Tetrathionate broth⁶ Salmonella-Shigella agar⁷ E. Coli⁸ 4-methylumbelliferyl B-D-galactopyranoside⁹ Cefixime Tellurite

جدول 1- بررسی ارزش غذایی و راندمان پودر استخوان ماهی کپور نقره‌ای (درصد)

نمونه	پروتئین	چربی	رطوبت	خاکستر	راندمان
پودر استخوان	18/51 ± 1/56	5/11 ± 1/12	5/38 ± 1/36	70/82 ± 1/95	66/98 ± 1/75

نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است.

نتایج و بحث

در مطالعه حاضر برای تهیه پودر استخوان از اتوکلاو استفاده گردید. برای استفاده مؤثر و تهیه پودر استخوان، استخوان ماهی باید نرم شود. استخوان‌ها ممکن است از طریق حرارت اتوکلاو یا تیمار با سود هنگام پخت نرم شوند و نرم شدن با زمان پخت افزایش یافت. نرم شدن استخوان ماهی پخته شده در آب را می‌توان با شستشوی مقدار کمی از پروتئین‌های استخوان در آب و در نتیجه تغییر در بافت استخوانی توضیح داد (Benjakul *et al.*, 2017). Nawaz و همکاران (2020) پودر استخوان را از ماهی کپور علف‌خوار¹ با استفاده از فرایند اتوکلاو تهیه کردند. این محققین امکان استفاده از اتوکلاو را به عنوان جایگزینی برای عملیات حرارتی برای تهیه پودر استخوان ماهی پیشنهاد کردند، که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد (Nawaz *et al.*, 2020). در مطالعه حاضر پودر تولیدی به روش قلیایی از استخوان ماهی عمل‌آوری شد، که با نظر بسیاری از محققین که بیان کردند می‌توان روش قلیایی را برای تهیه پودر از زائادات فراوری ماهی به کار گرفت، مطابقت دارد (Amitha, 2019).

در این مطالعه طی زمان نگهداری با اینکه بسته‌بندی از نوع هوازی بود و کپک و مخمر از میکروارگانیسم‌های هوازی اجباری هستند و توانایی رشد در شرایط مورد مطالعه را دارند اما در پودر استخوان مشاهده نشدند. زیرا علاوه بر شرایط هوازی رطوبت نیز از سایر عوامل مورد نیاز برای رشد کپک و مخمر است که به دلیل کاهش رطوبت به زیر حد مورد نیاز برای رشد کپک و مخمر این میکروارگانیسم‌ها مشاهده نشدند. اشریشیاکلی و سالمونلا نیز از باکتری‌هایی هستند که قادر به رشد در شرایط هوازی هستند اما مقدار رطوبت تیمار آزمایشی نیز برای رشد این باکتری‌ها مناسب نبود، از این رو میکروارگانیسم‌های مورد نظر در تیمار آزمایشی مشاهده نشدند. علاوه بر این، اشریشیاکلی و سالمونلا از میکروارگانیسم‌هایی بشمار می‌روند که آلودگی ثانویه بوده

و در اثر آلودگی با آب‌های آلوده با فاضلاب به فراورده منتقل می‌شوند و همچنین این امکان وجود دارد که اشریشیاکلی تحت تأثیر عمل‌آوری مکانیکی نیز به فراورده منتقل شود، ولی در مطالعه حاضر ماهی کپور نقره‌ای از نوع ماهیان پرورشی بوده که با آب زیرزمینی تغذیه شده و همچنین به کارگیری آب‌شرب برای فراوری و رعایت بهداشت سبب شدند که این باکتری مشاهده نشود (Odeyemi *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2017). در مورد بررسی ویژگی‌های میکروبی پودر استخوان ماهی از نظر وجود کپک و مخمر، سالمونلا و اشریشیاکلی در مطالعه‌های پیشین گزارشی منتشر نشده است.

در مطالعه‌ها قابلیت هضم پودر تجاری کربنات کلسیم به منزله منبع کلسیم مورد پذیرش قرار گرفته و به کار گرفته می‌شود و همچنین با در نظر گرفتن اینکه پودر ماهی برای مصارف انسانی در ایران تولید نمی‌شود، از این رو، در مطالعه حاضر پودر کربنات کلسیم به عنوان نمونه شاهد استفاده شد (Murillo *et al.*, 2022). بر اساس نتایج جدول (1) پودر استخوان ماهی برخلاف پودر کربنات کلسیم حاوی چربی (5/11 درصد) و پروتئین (18/51 درصد) است و دارای ارزش غذایی بالا به عنوان ماده اولیه برای تولید پودر خوراکی است. در روش استخراج قلیایی، جوشاندن با محلول سود محتوای پروتئین از پودر استخوان ماهی حذف می‌شود. همچنین علاوه بر پروتئین، دیگر مولکول‌های آلی مانند چربی در پودرهای کلسیم تهیه شده با استفاده از تیمار قلیایی به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد، بنابراین این روش برای عمل‌آوری پودر استخوان مورد بررسی قرار گرفت (Idowu *et al.*, 2020). اما مقدار خاکستر در تیمار آزمایشی 70/82 درصد تعیین شد که در مقایسه با کلسیم مصنوعی (99/50 درصد) کمتر بود، که به روش استخراج پودر برمی‌گردد. Wulandari و Kusumasari (2019) تأثیر استخراج قلیایی را روی ارزش غذایی پودر تهیه شده از استخوان خامه ماهی² بررسی کردند. مقادیر پروتئین (27/88 درصد)، چربی (7/85)

² *Chanos chanos*

¹ *Ctenopharyngodon idella*

می‌یابد اما کلیه و کبد جایگاه اصلی تجمع کادمیوم بوده، از این رو، عدم مشاهده آن را در استخوان‌های ماهی می‌توان انتظار داشت. اما از آنجاکه استخوان‌ها به منزله مکان اصلی تجمع سرب در ماهی بشمار می‌روند، وجود آن در این قسمت دور از انتظار نیست، ولی عوامل متعددی دسترسی‌زیستی و جذب این عنصر به ماهی را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد. همچنین اکثر مزارع پرورش ماهی در مکان‌هایی واقع شده‌اند که اطراف آن را گیاهان پوشانده‌اند و نقش آنها را نمی‌توان نادیده گرفت. این پوشش بر کاهش غلظت فلزات سنگین در آب ورودی به استخرهای پرورشی اثر داشته، اما قادر به حذف کامل عناصر سنگین از آب نبوده و باتوجه‌به اینکه جذب فلز سرب از طریق غذا اندک بوده و بیشترین مقدار آن از طریق آب به ماهی جذب می‌شود و با در نظر گرفتن اینکه ماهی کپور نقره‌ای از آبزیان پرورشی بوده و آب‌های زیرزمینی به‌عنوان منبع آب برای استخرهای پرورش ماهی به‌کار می‌روند، عدم وجود سرب در استخوان‌ها قابل توجیه است (Seifzadeh et al., 2018). Malde و همکاران (2010) وجود کادمیوم را در استخوان ماهی سالمون¹ گزارش نکردند و سرب (0/11 میلی‌گرم بر کیلوگرم) را در مقایسه با استانداردهای مرجع پایین‌تر بیان کردند. Nemati و همکاران (2017) از ضایعات ماهی تن باله زرد² و با استفاده از روش قلبیایی پودر را تولید کردند و گزارش آنها نشان داد که سرب و کادمیوم در پودر مشاهده نشده است. کلسیم، فسفر، روی و آهن مقام‌های اول تا چهارم را از نظر مقدار در پودر استخوان به خود اختصاص دادند. در مقایسه با پودر استخوان در کربنات کلسیم عناصر سیلیسیوم، آلومینیوم، باریوم و کروم یافت نشدند. باریوم، منگنز و آرسنیک به منزله عناصری شناسایی شدند که کمترین مقادیر را در پودر استخوان داشتند. علی‌رغم اینکه مقادیر عناصری از جمله فسفر، آرسنیک و سدیم در تیمار آزمایشی در مقایسه با شاهد بیشتر تعیین شدند اما مقادیر آهن، منگنز، مس و کلسیم در کربنات کلسیم، بیشتر گزارش شدند (جدول 2).

کربنات کلسیم، نمک کلسیم است که به‌دلیل دارابودن مقدار زیادی از کلسیم (تقریباً 40 درصد) به‌عنوان مکمل غذایی با استقبال زیاد مصرف‌کنندگان مواجه شده است. براساس مطالعه‌های انجام‌شده توسط سایر پژوهشگران

درصد) و خاکستر (1/42 درصد) در پودر خامه ماهی مشاهده شد که در مقایسه با مطالعه حاضر مقادیر پروتئین و چربی بیشتر اما مقدار خاکستر کمتر بود. باتوجه‌به اینکه از روش یکسانی برای تهیه پودر استفاده شده بود تفاوت حاصل را می‌توان به گونه ماهی، فصل صید، تغذیه ماهی و سایر عوامل ارتباط داد (Wulandari & Kusumasari, 2019). Yin و همکاران (2016) پودر استخوان کپور نقره‌ای را با استفاده از آسیاب تهیه کردند. این محققین خاکستر (63/72 درصد) و پروتئین (52/52 درصد) را به‌عنوان اجزای اصلی تشکیل‌دهنده پودر مطرح کردند که با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. در این مطالعه نیز پروتئین و خاکستر به‌عنوان ترکیبات مهم پودر شناسایی شدند. ترکیبات شیمیایی گونه‌های ماهی، سن، جنس، محیط و تغییرات فصلی از عواملی هستند که می‌توانند به تفاوت در ارزش غذایی پودر به‌دست‌آمده در مطالعه حاضر در مقایسه با مطالعه‌های انجام‌شده توسط سایر پژوهشگران را منجر شوند (Nuraeni, 2020).

جدول 2 - نتایج عناصر معدنی پودر به‌دست‌آمده از استخوان کپور نقره‌ای پرورشی در مقایسه با شاهد (کربنات کلسیم) (میلی‌گرم بر کیلوگرم)

ترکیبات معدنی	پودر استخوان	تیمار شاهد (کربنات کلسیم)
سدیم	6630/00 ^A	650/00 ^B
فسفر	81580/00 ^A	310/00 ^B
کلسیم	325000/00 ^B	388000/00 ^A
پتاسیم	4/58 ^A	0/41 ^B
سیلیسیوم	3/35	-
آلومینیوم	3/53	-
باریم	0/28	-
آرسنیک	0/20 ^A	0/12 ^A
کروم	5/85	-
مس	0/92 ^B	2496/00 ^A
آهن	57/00 ^B	1701/00 ^A
منگنز	0/26 ^B	107/00 ^A
روی	147/0 ^A	26/00 ^B
کادمیوم	0/01 ^{>A}	0/09 ^A

حروف غیرمشابه در یک ردیف نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح 5 درصد است ($P < 0/05$).

بررسی حضور عناصر معدنی در پودر تولیدی نشان داد که سرب و کادمیوم در تیمار آزمایشی شناسایی نشدند (جدول 2). کادمیوم در اندام‌های مختلف ماهی تجمع

¹ *Salmo salar*

² *Thunnus albacares*

غلظت‌های متفاوت آنها برای تولید پودر نیز نمی‌توان چشم‌پوشی کرد (Nemati et al., 2016).

جدول 3 - نتایج پروفایل اسیدهای آمینه پودر به‌دست‌آمده از استخوان ماهی کپور نقره‌ای پرورشی (میلی‌گرم بر کیلوگرم)

پودر استخوان ماهی کپور نقره‌ای	نمونه اسید آمینه
55/69 ± 2/12	اسید آسپارتیک
26/49 ± 2/87	سرین
100/16 ± 2/35	اسید گلوتامیک
28/78 ± 1/24	گلیسین
7/52 ± 1/96	سیستئین
44/99 ± 1/56	آرژنین
18/67 ± 1/79	پرولین
23/53 ± 1/86	آلانین
27/68 ± 2/18	تیروزین
28/39 ± 2/67	والین
24/82 ± 2/75	ایزولوسین
13/31 ± 2/38	هیستیدین
45/80 ± 1/82	لیزین
45/87 ± 1/69	لوسین
11/31 ± 1/74	متیونین
23/58 ± 2/90	فنیل آلانین
25/21 ± 2/16	ترئونین
551/80	مجموع اسید آمینه
218/29	مجموع اسیدهای آمینه ضروری
333/51	مجموع اسیدهای آمینه غیر ضروری
0/39	نسبت مجموع اسید آمینه‌های ضروری به کل اسید آمینه
0/60	نسبت مجموع اسیدهای آمینه غیر ضروری به کل اسید آمینه

نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است.

بر اساس نتایج جدول (3) اسیدهای آمینه از انواع ضروری و غیر ضروری در تیمار شاهد یافت نشدند. در تیمار آزمایشی لوسین، لیزین و والین که در گروه اسیدهای آمینه ضروری قرار گرفته‌اند، به ترتیب مقام‌های اول تا سوم را به خود اختصاص دادند. در این تیمار اسیدهای گلوتامیک و آسپارتیک و آرژنین که در قسمت اسیدهای آمینه غیر ضروری طبقه‌بندی شده‌اند، به‌عنوان عناصر حائز رتبه‌های اول تا سوم معرفی شدند. در مجموع بین اسیدهای آمینه ضروری و غیر ضروری اسید گلوتامیک بیشترین میزان بود. اسیدهای آمینه غیر ضروری در مقایسه با اسیدهای آمینه ضروری از نظر مقیاس جایگاه

مقدار کلسیم در استخوان‌های ماهی در مقایسه با کربنات کلسیم کمی کمتر است (Murillo et al., 2022). همان‌طور که در جدول (2) نشان داده شده است پودر استخوان حاوی 325000 میلی‌گرم بر کیلوگرم و کربنات کلسیم شامل 388000 میلی‌گرم بر کیلوگرم کلسیم و همچنین پودر استخوان حاوی 81580 میلی‌گرم بر کیلوگرم و کربنات کلسیم حاوی 310 میلی‌گرم بر کیلوگرم فسفر بودند. به‌طوری‌که در جدول (2) مشاهده می‌شود این عناصر بیشترین مقادیر را در ساختار پودر به خود اختصاص داده‌اند. Nemati و همکاران (2017) در بررسی پودر ضایعات ماهی تن باله زرد تهیه‌شده به روش قلیایی، کلسیم (38/16 درصد) را به‌عنوان بیشترین عنصر پودر معرفی کردند. Yin و همکاران (2016) میزان کلسیم کل را 236/90 میلی‌گرم در گرم در پودر استخوان کپور نقره‌ای تولیدشده توسط آسیاب گزارش کردند. Savlak و همکاران (2020) در بررسی تأثیر ترکیبات مختلف از جمله سود خالص و سود در ترکیب با اسید سیتریک، هیپوکلریت سدیم، اتانول، کلرید هیدروژن و آب شرب روی ترکیبات معدنی پودر ماهی پورگی¹ دریافتند که پودر تهیه‌شده با سود 21/46 درصد بیشترین ترکیبات معدنی را داشت و حاوی مقادیر بالایی از کلسیم (232/13 گرم بر کیلوگرم) و فسفر (111/63 گرم بر کیلوگرم) بود. این محققین نسبت کلسیم به فسفر را 2/07 تعیین کردند. Njoroge و Lokuruka (2020) از استخوان ماهی تیلاپیا با استفاده از سود 2 درصد (به نسبت 5 برابر اسکلت) پودر تهیه کردند و نشان دادند که پودر استخوان تیلاپیا تقریباً حاوی 100 میلی‌گرم بر گرم کلسیم بود. Nemati و همکاران (2016) پودر استخوان ماهی تن را به روش قلیایی تولید کرده و دریافتند که پودر حاوی 38/16 و 23/31 گرم بر 100 گرم کلسیم و فسفر بود. همچنین نسبت مقادیر کلسیم به فسفر محصول را 1/25 محاسبه کردند، در حالی‌که در مطالعه حاضر این نسبت 3/93 بود که به دلیل نسبت بالاتر مقادیر کلسیم و فسفر در پودر استخوان در مقایسه با کربنات کلسیم می‌باشد. شرایط شیمیایی و فرایندهای حرارتی از عواملی بودند که تغییر سطوح کلسیم و فسفر و همچنین نسبت آنها را در مطالعه‌های اخیر در مقایسه با نتایج مطالعه حاضر سبب شدند. از اثرات ترکیبات قلیایی و همچنین کاربرد

¹ Sparus aurata

بالتری داشتند. برخلاف اسیدهای آمینه ضروری که تمام انواع آن در پودر استخوان ماهی کپور نقرهای شناسایی شده‌اند، گلوتامین و آسپارژین که از اسیدهای آمینه غیرضروری بشمار می‌روند، در این تیمار یافت نشدند. براساس پروفایل اسیدهای آمینه ضروری، تیمار آزمایشی بیان شده است (جدول 3). کاربرد اتوکلاو در مراحل عمل‌آوری پودر علاوه بر کاهش اندازه ذرات آن همچنین منجر به بروز تغییراتی در ساختار اسیدهای آمینه ضروری پودر می‌شود. علاوه بر این، امکان دارد که تغییر ایجاد شده ناشی از اثرات به‌کارگیری آسیاب برای تولید پودر باشد که تجزیه و جداسازی پپتیدهای کلاژن را آسان می‌کند. کلاژن یکی از ترکیبات اصلی تشکیل‌دهنده استخوان است و وجود اسیدهای آمینه خاصی در آن (به‌عنوان مثال، گلیسین، لوسین، پرولین، هیدروکسی پرولین و لیزین) و منوساکاریدها جذب کلسیم را از طریق روده افزایش می‌دهند. از این رو، کلسیم پودر استخوان تهیه‌شده از ماهی کپور نقرهای توانایی جذب بیشتری را از طریق دیواره روده در مقایسه با کلسیم مصرف‌شده از طریق پودر کربنات کلسیم دارد (Murillo et al., 2022; Nemati et al., 2016). فشار بخار آب اتوکلاو نیز می‌تواند یکی دیگر از دلایلی باشد که باند‌های پپتیدی پروتئین‌های پودر را باز کرده و دسترسی‌زیستی آن را افزایش دهد. علاوه بر این، فراوری با استفاده از اتوکلاو جمع‌شدگی و تغییر بیشتر در ساختار پروتئین را ممکن می‌سازد (Nawaz et al., 2020). Nemati و همکاران (2017) پودر ضایعات ماهی تن باله زرد تهیه‌شده به روش قلیایی را بررسی کردند، و به وجود اسیدهای آمینه از جمله لیزین، والین، لوسین، ایزولوسین، متیونین، ترئونین، هیستیدین، فنیل آلانین و تریپتوفان (اسیدهای آمینه ضروری) در ترکیب پودر پی‌بردند. این پژوهشگران سطوح اسیدهای آمینه غیرضروری شامل اسید گلوتامیک، آرژنین، آلانین، آسپارتیک اسید و سرین را در مقایسه با اسیدهای آمینه غیرضروری مانند گلیسین و پرولین و همچنین هیدروکسی پرولین که در ساخت کلاژن مؤثر بودند، بیشتر گزارش کردند (Nemati et al., 2017). در مطالعه حاضر نیز تمام انواع اسیدهای آمینه از گروه ضروری در پودر استخوان یافت شدند. همچنین گلیسین و پرولین مورد شناسایی قرار گرفتند و اسیدهای گلوتامیک و آسپارتیک نیز در سطوح بالایی در پودر استخوان وجود داشتند، به‌دنبال آنها آرژنین، آلانین و سرین بیشترین میزان را در مقایسه با سایر

اسیدهای آمینه به خود اختصاص دادند. ولی هیدروکسی پرولین در تیمار آزمایشی مشاهده نشد. براساس نظر سایر محققین روش قلیایی به‌عنوان عاملی است که اثرات قابل‌ملاحظه‌ای در کاهش ترکیبات آلی پودرهای حاوی کلسیم دارد، این پدیده قابل توجه است. باتوجه به نتایج، وجود اسیدهای چرب در تیمار شاهد (کربنات کلسیم) گزارش نشد (جدول 4). در مطالعه حاضر اسید پالمیتیک و به‌دنبال آن اسید استئاریک که در دسته اسیدهای چرب اشباع طبقه‌بندی شده‌اند، در مقایسه با سایر اسیدهای چرب این گروه بیشترین میزان را در تیمار آزمایشی داشتند. اسیدهای ایکوزنوئیک و پالمیتوئیک (سیس) و اسیدهای لینولئیک و آلفا-لینولئیک به ترتیب از گروه اسیدهای چرب تک‌زنجیره غیراشباع و چندغیراشباع هستند که بالاترین مقام را در این دسته‌ها به خود اختصاص دادند.

براساس نتایج جدول (4)، اسیدهای چرب ضروری در تیمار آزمایشی مشاهده شده است. وجود این اسیدهای چرب در پودر را می‌توان تحت تأثیر کاربرد ماده اولیه با منشأ آبزیان برای تولید پودر و اینکه آبزیان سرشار از اسیدهای چرب غیراشباع هستند، دانست. هرچند براساس مطالعه‌های سایر پژوهشگران اسیدهای چرب به حرارت حساس هستند و طی عمل‌آوری پودر حرارت به روش‌های مختلف مانند اتوکلاو و جوشاندن استخوان در آب و آب همراه با سود به‌کارگرفته شد، اما اسیدهای چرب در پودر استخوان به وفور وجود داشتند (Kandyliari et al., 2020). Nemati و همکاران (2017) در بررسی پودر ضایعات ماهی تن باله زرد تهیه‌شده به روش قلیایی دریافتند که در پودر میزان اسیدهای اولئیک، پالمیتیک و گوندوئیک در مقایسه با مقادیر اسیدهای هگزادکاترینوئیک، گاما-لینولئیک و دی‌هومو-گاما-لینولئیک بیشتر بود. همچنین این محققین میزان اسیدهای میریستیک، استئاریک، ایکوزاپنتانوئیک و دوکوزاهگزانوئیک را در مقایسه با اسیدهای گفته‌شده نسبتاً بیشتر دانستند (Nemati et al., 2017). در مطالعه حاضر نیز اسیدهای الایدیک، پالمیتیک، پالمیتوئیک (سیس) و آلفا-لینولئیک پودر آزمایشی از نظر مقدار مقام‌های اول تا چهارم را به خود اختصاص دادند. مقادیر اسیدهای ایکوزاپنتانوئیک و دوکوزاهگزانوئیک تیمار آزمایشی در مقایسه با سایر اسیدهای چرب تعیین‌شده بالاتر بود. تفاوت در نتایج مطالعه حاضر با سایر تحقیقات انجام‌شده را می‌توان به دلیل گونه ماهی مورد استفاده برای تهیه پودر،

حاصل از استخوان ماهی از رنگ سفید برخوردار بود. همچنین این ویژگی طی 6 ماه نگهداری پودر استخوان تغییر معنی‌دار نداشت ($P>0/05$). Bhenjapaipong (2021) هنگام تهیه پودر استخوان ماهی از قزل‌آلای صورتی¹ و ماهی آزاد اقیانوس اطلس² خشک کردن در دمای 70 درجه سانتی‌گراد به مدت 120 دقیقه را که منجر به تولید پودری با بیشترین رنگ سفیدی در مقایسه با سایر پودرها شده بود، انتخاب کردند (Bhenjapaipong, 2021). اما در مطالعه حاضر دما و زمان خشک کردن پودر 50 درجه سانتی‌گراد به مدت 1 ساعت بود، که پودر حاصل از رنگ سفید بسیار مطلوبی برخوردار بود. تفاوت در نتایج این محققین در مقایسه با نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر به دلیل شرایط تولید متفاوت و استفاده از زودپز تحت فشار است.

بر اساس نتایج جدول (6) بین بافت، طعم و مزه پودر استخوان و شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P>0/05$). همچنین ویژگی‌های حسی در پودر استخوان ماهی و تیمار شاهد طی زمان نگهداری کاهش معنی‌داری نشان ندادند ($P>0/05$). پودر استخوان به مقدار کمی از بوی ماهی برخوردار بود، اما ویژگی بو در پودر استخوان در مقایسه با کربنات کلسیم تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($P>0/05$). به دلیل عدم استفاده از ترکیبات کاهش‌دهنده بو در تهیه پودر استخوان و همچنین عدم تأثیر هیدروکسید سدیم در حذف بوی محصول، از این رو پودر تولید شده به مقدار جزئی بوی ماهی را به همراه داشت (Savlak et al., 2020). باتوجه به اینکه ویژگی‌های حسی بین پودر و تیمار شاهد تقریباً یکسان بود، از این رو شاخص پذیرش کلی بین پودر و شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P>0/05$). Bhenjapaipong (2021) هنگام تهیه پودر استخوان ماهی در شرایط بهینه از ماهی قزل‌آلای صورتی و ماهی آزاد اقیانوس اطلس تحت فشار زودپز و حرارت در دمای 140 درجه سانتی‌گراد به مدت 60 دقیقه دریافتند که پودر حاصل از سفتی کم برخوردار است. در مطالعه حاضر از توکلاو به مدت 60 دقیقه استفاده شد، که پودر حاصل از سفتی نسبی برخوردار بود، از این رو با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. در مورد ارزیابی ویژگی‌های حسی بو، طعم و مزه و پذیرش کلی پودر استخوان ماهی تاکنون گزارشی منتشر نشده است.

ترکیبات شیمیایی ماهی، فصل صید، تغذیه ماهی، دما و زمان به کاررفته برای تولید پودر، pH، مراحل عمل‌آوری، اتوکلاو و سایر عوامل احتمالی دانست (Nemati et al., 2017).

جدول 4 - پروفایل اسیدهای چرب پودر به دست آمده از استخوان ماهی کپور نقره‌ای پرورشی (درصد)

نمونه اسید چرب	پودر استخوان ماهی کپور نقره‌ای
اسید مریستیک	2/65
اسید لوریک	0/11
اسید تری دکانویک	0/09
اسید پنتادسیکلک	0/85
اسید آراشیدیک	0/24
اسید لینگوسریک	0/03
اسید مارگاریک	0/75
اسید پالمیتیک	22/73
اسید استئاریک	5/12
اسید بهنیک	0/09
مجموع اسیدهای چرب اشباع	32/66
اسید واکسنیک	5/65
اسید الایدیک	43/74
اسید ایکوزنویک	0/14
اسید مریستولنیک	0/09
اسید جینگولیک	0/07
اسید پالمیتولنیک (ترانس)	0/73
اسید پالمیتولنیک (سیس)	11/23
اسید جینگ کولیک	0/99
مجموع اسیدهای چرب تک‌زنجیره غیراشباع	62/64
لینولنیک اسید	7/35
ایکوزادینوئیک اسید	0/35
اسید آلفا-لینولنیک	5/97
اسید گاما-لینولنیک	0/27
دی هومو-گاما-اسید لینولنیک	0/56
اسید آراشیدونیک	1/96
دوکوزاپنتانوئیک اسید	0/75
مجموع اسیدهای چرب چندغیراشباع	17/21
نسبت اسیدهای چرب چندغیراشباع به اسیدهای چرب اشباع	0/52
ایکوزاپنتانوئیک اسید	271/95
دوکوزاهگزانوئیک اسید	253/67

بر اساس نتایج جدول (5) روشنی رنگ در پودر استخوان در مقایسه با شاهد تفاوت معنی‌داری ندارد ($P>0/05$). پودر

¹ *Oncorhynchus gorbuscha*

² *Salmo salar*

جدول 5- نتایج ارزیابی فاکتورهای رنگی پودر به دست آمده از استخوان ماهی کپور نقره‌ای پرورشی طی 6 ماه نگهداری در دمای محیط در مقایسه با کربنات کلسیم (شاهد)

زمان نگهداری نمونه (ماه)	پودر استخوان			شاهد		
	L	a	b	L	a	b
صفر	93/68±0/89 ^{aA}	1/98±0/79 ^{aA}	1/86±0/93 ^{aA}	92/76±0/98 ^{aA}	1/73±0/90 ^{aA}	1/82±2/95 ^{aA}
1	93/66±0/78 ^{aA}	1/95±0/72 ^{aA}	1/85±0/42 ^{aA}	92/74±0/26 ^{aA}	1/71±0/42 ^{aA}	1/81±0/24 ^{aA}
2	93/62±0/32 ^{aA}	1/93±0/58 ^{aA}	1/82±0/77 ^{aA}	92/71±0/38 ^{aA}	1/71±0/37 ^{aA}	1/79±0/71 ^{aA}
3	93/44±0/96 ^{aA}	1/93±0/63 ^{aA}	1/72±0/88 ^{aA}	92/65±0/37 ^{aA}	1/67±0/89 ^{aA}	1/79±0/99 ^{aA}
4	93/41±0/97 ^{aA}	1/91±0/72 ^{aA}	1/70±0/86 ^{aA}	92/61±0/94 ^{aA}	1/64±0/81 ^{aA}	1/77±0/91 ^{aA}
5	93/41±0/94 ^{aA}	1/87±0/97 ^{aA}	1/70±0/83 ^{aA}	92/53±0/92 ^{aA}	1/64±0/87 ^{aA}	1/68±0/89 ^{aA}
6	93/36±0/85 ^{aA}	1/85±0/49 ^{aA}	1/69±0/78 ^{aA}	92/49±0/69 ^{aA}	1/61±0/74 ^{aA}	1/62±0/76 ^{aA}

حروف کوچک متفاوت در هر ستون و حروف بزرگ متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح 5 درصد می‌باشد ($P < 0/05$). نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است.

جدول 6 - نتایج ویژگی‌های حسی پودر استخوان ماهی کپور نقره‌ای پرورشی در مقایسه با شاهد طی 6 ماه نگهداری در دمای محیط

زمان نگهداری تیمار (ماه)	پودر استخوان ماهی				شاهد (کربنات کلسیم)			
	بافت	بو	طعم و مزه	پذیرش کلی	بافت	بو	طعم و مزه	پذیرش کلی
صفر	4/31±1/13 ^{aA}	4/91±1/39 ^{aA}	4/56±1/35 ^{aA}	4/52±0/41 ^{aA}	4/41±1/13 ^{aA}	4/94±1/39 ^{aA}	4/68±1/35 ^{aA}	4/55±0/41 ^{aA}
1	4/31±1/41 ^{aA}	4/91±1/41 ^{aA}	4/55±1/27 ^{aA}	4/52±0/47 ^{aA}	4/41±1/41 ^{aA}	4/94±1/41 ^{aA}	4/68±1/27 ^{aA}	4/55±0/47 ^{aA}
2	4/31±1/29 ^{aA}	4/87±1/55 ^{aA}	4/46±1/21 ^{aA}	4/48±0/68 ^{aA}	4/41±1/29 ^{aA}	4/94±1/55 ^{aA}	4/68±1/21 ^{aA}	4/55±0/68 ^{aA}
3	4/27±1/32 ^{aA}	4/73±1/67 ^{aA}	4/37±1/52 ^{aA}	4/46±0/79 ^{aA}	4/35±1/32 ^{aA}	4/93±1/67 ^{aA}	4/65±1/52 ^{aA}	4/51±0/79 ^{aA}
4	4/21±1/17 ^{aA}	4/62±1/63 ^{aA}	4/25±1/57 ^{aA}	4/38±0/49 ^{aA}	4/31±1/17 ^{aA}	4/93±1/63 ^{aA}	4/65±1/57 ^{aA}	4/51±0/49 ^{aA}
5	4/15±1/28 ^{aA}	4/59±1/54 ^{aA}	4/22±1/93 ^{aA}	4/35±0/68 ^{aA}	4/30±1/28 ^{aA}	4/91±1/54 ^{aA}	4/62±1/93 ^{aA}	4/50±0/68 ^{aA}
6	4/12±1/25 ^{aA}	4/53±1/53 ^{aA}	4/20±1/98 ^{aA}	4/30±0/28 ^{aA}	4/28±1/23 ^{aA}	4/85±1/59 ^{aA}	4/55±1/90 ^{aA}	4/48±0/62 ^{aA}

حروف کوچک متفاوت در هر ستون و حروف بزرگ متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح 5 درصد می‌باشد ($P < 0/05$). نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که پودر استخوان ماهی تولیدی از استخوان کپور نقره‌ای در مقایسه با پودر کربنات کلسیم تجاری که به‌عنوان منبع کلسیم شناخته شده است، سرشار از املاح معدنی مختلف و همچنین غنی از اسیدهای چرب و اسیدهای آمینه ضروری بدن انسان بوده و می‌تواند به‌طور قابل‌توجهی به نیازهای سلامت انسان کمک کند. علاوه بر این، زائادات فیله‌سازی دارای اثرات مفید زیادی هستند، که به‌عنوان ماده اولیه برای تولید محصولات باارزش افزوده و تجاری استفاده می‌شوند، که ممکن است علاوه بر کاهش بار آلی ناشی از صنعت فراوری ماهی کاربرد بالقوه‌ای در صنعت و پزشکی داشته باشند. از این‌رو، برای بهره‌مندی بیشتر از کلسیم غنی‌سازی مواد غذایی با پودر استخوان ماهی کپور نقره‌ای قابل پیشنهاد است.

تشکر و قدردانی

از شرکت الماس آدرین پارس به دلیل فراهم کردن زائادات و استفاده از خط تولید و از آقای مهندس صفری به دلیل همکاری در تولید پودر استخوان سپاسگزاری می‌گردد.

مشارکت نویسندگان

جمع آوری داده، تجزیه و تحلیل و تفسیر داده‌ها، نوشتن پیش‌نویس مقاله، آنالیز داده‌ها، ارائه ایده پژوهشی و طراحی مطالعه، بازبینی و اصلاح مقاله، نظارت بر مطالعه و تأیید نسخه نهایی توسط مینا سیف‌زاده انجام شده است.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

منابع

- Amitha, C. V., Raju, I. P., Lakshmisha, P., Kumar, A., Gajendra, A. S., & Pal, J. (2019). Nutritional composition of fish bone powder extracted from three different fish filleting waste boiling with water and an alkaline media. *Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(2), 7.
- Andrews, W. H. r., Wang, H., Jacobson, A., Ge, B., Zhang, G., & Hammack, T. S. (2022). Chapter 5- *Salmonella*. In *FDA's Bacteriological Analytical Manual*. Food and Drug Administration.
- AOAC. (1990). AOAC Official Methods of Analysis, Association Official Agriculture Chemists. AOAC Standard No.9.CFR 318.19 (b). In *Official Methods of Analysis of AOAC International* U.S. Patent and Trademark Office.
- AOAC. (2000a). Calcium, copper, iron, magnesium, manganese, phosphorus, potassium, and zinc in infant formula. Inductively coupled plasma emission spectroscopic method. Method 984.27. In *Official Methods of Analysis of AOAC International*. U.S. Patent and Trademark Office.
- AOAC. (2000b). Fish and Marine Products Treatment and Preparation of Sample No. 937.07. In *Official Methods of Analysis of AOAC International*. U.S. Patent and Trademark Office.
- AOAC. (2005). Official Methods of Analysis Manual, AOAC Standard No. 935.14 and 992.24. In *Official Methods of Analysis of AOAC International*. U.S. Patent and Trademark Office.
- Asikin, A. N., Kusumaningrum, I., & Hidayat, T. (2019). Effect of knife-fish bone powder addition on characteristics of starch and seaweed kerupuk as calcium and crude fiber sources. *Current Research in Nutrition and Food Science*, 7(2), 584. <https://doi.org/10.12944/CRNFSJ.7.2.27>
- Benjakul, S., Mad-Ali, S., Senphan, T., & Sookchoo, P. (2017). Biocalcium powder from precooked skipjack tuna bone: Production and its characteristics. *Journal of Food Biochemistry*, 41(6), e12412. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12412>
- Bhenjapaipong, S., Puttisaowapak, N., Sutloet, P., & Sompongse, W. (2021). Production of fish ball fortified with fish bone powder from Salmon. *Thai Science and Technology Journal*, 29(4), 11.
- Demerjian, P. R. (2018). Calculating efficiency with financial accounting data: Data envelopment analysis for accounting researchers. Available at SSRN 2995038.
- Desai, A. S., Brennan, M. A., & Brennan, C. S. (2018). Effect of fortification with fish (*Pseudophycis bachus*) powder on nutritional quality of durum wheat pasta. *Foods*, 7(4), 62. <https://doi.org/10.3390/foods7040062>
- FAO. (2020). *The State of World Fisheries and Aquaculture*. United Nations: Food and Agricultural Organisation of the United Nations.
- Feng, P., Weagant, S. D., Grant, M. A., Burkhardt, W., Shellfish, M., & Water, B. (2002). BAM Chapter 4: Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. *Bacteriological analytical manual*, 13(9), 1-13.
- Gilbert, S. W. (2013). *Applying the Hedonic Method Technical Note 1811*. USA: Department of Commerce, National Institute of Standards and Technology.
- Gupta, K., Kutagulla, T., Shwetha, K., & Nm, S. (2018, December). *Fortification of Extruded Food Products Using Fish Bone Powder as the Natural Calcium Source* 8th International Food Convention (IFCON),
- Idowu, A. T., Benjakul, S., Sinthusamran, S., Sae-leaw, T., Suzuki, N., Kitani, Y., & Sookchoo, P. (2020). Effect of alkaline treatment on characteristics of bio-calcium and hydroxyapatite powders derived from salmon bone. *Applied Sciences*, 10(12), 4141. <https://doi.org/10.3390/app10124141>
- IFO. (2021). *Statistical yearbook of Iranian fisheries during the years 2014-2016*. Iranian Fisheries Organization. (in Persian)
- Iran National Standards Organization (INSO). (2008). *Milk and its products-determination of calcium, sodium, potassium and magnesium- atomic absorption spectrometry method. (INSO Standard No. 10780, 1st Edition)*. <http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=7407> (in Persian)
- Iran National Standards Organization (INSO). (2016a). *Livestock, poultry and aquatic feed - measurement of amino acids cotent. (INSO Standard No. 10699, 1st Edition)*. <http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=8910> (in Persian)

- Iran National Standards Organization (INSO). (2016b). *Measurement of lead, cadmium, copper, iron and zinc by atomic absorption spectrophotometry. (INSO Standard No. 9266, 1st Edition)*. <http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=182> (in Persian)
- Iran National Standards Organization (INSO). (2022). *Vegetable oils and fats - gas chromatography of methyl esters of fatty acids. Part 2: Preparation of methyl esters of fatty acids. (INSO Standard No. 13126-2, 1st Revision)*. <http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=56816> (in Persian)
- Kandyliari, A., Mallouchos, A., Papandroulakis, N., Golla, J. P., Lam, T. T., Sakellari, A., Karavoltos, S., Vasiliou, V., & Kapsokefalou, M. (2020). Nutrient composition and fatty acid and protein profiles of selected fish by-products. *Foods*, 9(2), 190. <https://doi.org/10.3390/foods9020190>
- Malde, M. K., Bügel, S., Kristensen, M., Malde, K., Graff, I. E., & Pedersen, J. I. (2010). Calcium from salmon and cod bone is well absorbed in young healthy men: a double-blinded randomised crossover design. *Nutrition & metabolism*, 7(1), 1-9. <https://doi.org/10.1186/1743-7075-7-61>
- Murillo, S., Ardoin, R., Watts, E., & Prinyawiwatkul, W. (2022). Effects of Catfish (*Ictalurus punctatus*) Bone Powder on Consumers' Liking, Emotions, and Purchase Intent of Fried Catfish Strips. *Foods*, 11(4), 540. <https://doi.org/10.3390/foods11040540>
- Nawaz, A., Li, E., Irshad, S., Hammad, H., Liu, J., Shahbaz, H. M., Ahmed, W., & Regenstein, J. M. (2020). Improved effect of autoclave processing on size reduction, chemical structure, nutritional, mechanical and in vitro digestibility properties of fish bone powder. *Advanced Powder Technology*, 31(6), 2513-2520. <https://doi.org/10.1016/j.apt.2020.04.015>
- Nemati, M., Huda, N., & Ariffin, F. (2017). Development of calcium supplement from fish bone wastes of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) and characterization of nutritional quality. *International Food Research Journal*, 24(6), 2419-2426.
- Nemati, M., Kamilah, H., Huda, N., & Ariffin, F. (2016). In vitro calcium availability in bakery products fortified with tuna bone powder as a natural calcium source. *International journal of food sciences and nutrition*, 67(5), 535-540. <https://doi.org/10.1080/09637486.2016.1179269>
- Njoroge, J. G., & Lokuruka, M. N. (2020). Sensory acceptability of cookies fortified with tilapia fish bone powder. *Food and Nutritional Sciences Research*, 2(1), 94-101. <https://doi.org/10.37512/800>
- Nuraeni, A., Rostini, I., Dhahiyat, Y., & Pratama, R. I. (2020). Milkfish bone flour fortification as a source of calcium on don't preference level. *Global Scientific Journal*, 8(4), 269-270.
- Odeyemi, O. A., Burke, C. M., Bolch, C. C., & Stanley, R. (2018). Seafood spoilage microbiota and associated volatile organic compounds at different storage temperatures and packaging conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 280, 87-99. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.12.029>
- Pyz-Lukasik, R., & Paszkiewicz, W. (2018). Species variations in the proximate composition, amino acid profile, and protein quality of the muscle tissue of grass carp, bighead carp, siberian sturgeon, and wels catfish. *Journal of Food Quality*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/2625401>
- Ratnamanjari Senapati, S., Swain, H. S., & Mishra, R. (2014). By products from fish bone. *Aquaculture International*, 2014(2), 3.
- Savlak, N., Çağındı, Ö., Erk, G., Öktem, B., & Köse, E. (2020). Treatment Method Affects Color, Chemical, and Mineral Composition of Seabream (*Sparus aurata*) Fish Bone Powder from by-Products of Fish Fillet. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 29(6), 592-602. <https://doi.org/10.1080/10498850.2020.1775742>
- Seifzadeh, M., Golshahi, E., & Safiyari, S. (2018). Study the concentrations of lead and cadmium in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Talesh of Guilan. *Journal of Animal Science Research*, 28(2), 65-79. (in Persian)
- Tournas, V., Stack, M. E., Mislivec, P. B., Koch, H. A., & Bandler, R. (2001). BAM Chapter 18: yeasts, molds and mycotoxins. *Bacteriological analytical manual*, 8.
- Wang, F., Fu, L., Bao, X., & Wang, Y. (2017). The spoilage microorganisms in seafood with the existed quorum sensing phenomenon. *Journal of Food Microbiology*, 1(1), 14-19.
- Wulandari, P., & Kusumasari, S. (2019). Effect of extraction methods on the nutritional characteristics of milkfish (*Chanos chanos* Forsskal) bone powder. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science,

- Yin, T., Du, H., Zhang, J., & Xiong, S. (2016). Preparation and characterization of ultrafine fish bone powder. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 25(7), 1045-1055. <https://doi.org/10.1080/10498850.2015.1010128>
- Zhao, F., Zhuang, P., Song, C., Shi, Z.-h., & Zhang, L.-z. (2010). Amino acid and fatty acid compositions and nutritional quality of muscle in the pomfret, *Pampus punctatissimus*. *Food Chemistry*, 118(2), 224-227. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.04.110>

Investigating the Nutritional Value, Microbial, and Sensory Properties of Cultured Silver Carp Fish Bone Powder (*Hipophthalmichthys molitrix*)

Mina Seifzadeh^{ID1*}

1- National Aquatic Processing Research Center, Inland Aquaculture Research Institute, Fisheries Science Research Institute, Agricultural Education and Extension Research Organization, Anzali, Iran

* Coresponding author (m_seifzadeh_ld@yahoo.com)

Abstract

The present study aimed to prepare powder from silver carp fish bone applying alkaline method and investigate its nutritional, sensory, and microbial characteristics. In this research, calcium carbonate was used as a control. The amounts of protein (18.51%), fat (5.11%), moisture (5.58%) and ash (70.82%) were determined in the fish bone powder. The efficiency of powder preparation was determined to be 66.98%. Unlike fish bone powder, the mineral elements silicon, aluminum, barium, and chromium were not observed in the control sample. Phosphorus in bone powder (81580 mg/kg) was more than the control (310 mg/kg) ($P<0.05$). However, calcium in the experimental treatment was lower (325000 mg/kg) compared to the control (388000 mg/kg) ($P<0.05$). In terms of overall acceptance and color no significant difference was observed between experimental and control treatments ($P<0.05$). Among saturated fatty acids, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids, respectively, palmitic acid (22.73%), elaidic acid (43.74%) and linoleic acid (7.35%) had the highest amounts in bone powder. Also, the total amount of essential amino acids including threonine, valine, lysine, isoleucine, methionine, histidine, and phenylalanine was 218.29%. The no microorganisms such as fungi, *Escherichia coli*, and *Salmonella* in the treatments were observed. Since bone powder can be produced in large quantities from different types of fish and is rich in nutritional compounds, it is suggested to the food industry for enriching food products.

Keywords: Alkaline extraction, Cultured fish, Enrichment, Fish waste, Nutritional value

© 2023, Research Institute of Food Science and Technology. All rights reserved.

This is an open-access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0). To view a copy of this license, visit (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

